

Interorgan protein and glutamine metabolism in the tumor bearing rat

Citation for published version (APA):

de Blaauw, I. (1996). *Interorgan protein and glutamine metabolism in the tumor bearing rat*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Universiteit Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.19961220ib>

Document status and date:

Published: 01/01/1996

DOI:

[10.26481/dis.19961220ib](https://doi.org/10.26481/dis.19961220ib)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

In de aanwezigheid van kanker ontstaan stoornissen in de stofwisseling die leiden tot gewichtsverlies en ondervoeding. Dit heeft een negatief effect op de uitkomst van de behandeling van kanker en draagt bij, indien onbehandeld, tot een vervroegde dood. De stoornissen in de stofwisseling betreffen zowel de suiker-, vet-, aminozuur- en eiwit-stofwisseling. Doel van dit proefschrift was de door kanker geïnduceerde veranderingen in de aminozuur- en eiwit-stofwisseling te bestuderen in ratten waarbij tumoren onderhuids geïmplantéerd zijn.

Het proefschrift bestaat uit drie delen. Allereerst wordt een model geïntroduceerd om in een verdoofde, levende rat (*in vivo*) de eiwit- en aminozuur-stofwisseling te meten in verschillende organen (spier, darm en lever). Als tweede worden de effecten van een steeds groter wordende tumor op de eiwit- en aminozuur-stofwisseling van spier-, darm- en lever-weefsel bestudeerd. Tot slot wordt bestudeerd hoe de stofwisseling bij kanker-dragende ratten reageert op een standaard-operatie (chirurgisch trauma).

Deel I

Hoofdstuk 1 van het proefschrift vormt een introductie tot de algemene problematiek van de stofwisselingsstoornissen die gezien worden bij kanker en, meer specifiek, tot de eiwit- en aminozuur-stofwisselingsstoornissen bij kanker. Hoewel veel onderzoek op dit gebied reeds verricht is, heeft het nog niet geresulteerd in een goed begrip van de veranderingen en in een adequate behandeling van de verstoringen.

Hoofdstuk 2 geeft een samenvatting van de tot nu toe bekende mogelijkheden om de eiwit- en aminozuur-stofwisseling te meten. Uit de bestaande literatuur bleek dat het nog niet mogelijk was om dit *in vivo* te kunnen meten in de rat. In hoofdstuk 3 en 4 worden daarom verschillende methoden en modellen getest en gevalideerd om aanmaak en verbruik (omzetting of turnover) van eiwitten en aminozuren te meten. In deze studies tonen we aan dat de zogenaamde arteriele-veneuze verdunningsmethode bruikbaar is om dit te meten en, in gezonde omstandigheden, vergelijkbaar is als de zogenaamde incorporatie-techniek. Indien daarbij een drie compartimenten rekenmodel gebruikt wordt kan tevens de snelheid van het membraan transport waarmee aminozuren vanuit het bloed naar de weefsels gaan,

gemeten worden. In hoofdstuk 3 laten we ook zien dat na langdurig hongeren de arteriele-veneuze verdunningsmethode een verhoging van de eiwitsynthese laat zien terwijl de zogenaamde incorporatie-techniek een daling in de eiwitsynthese laat zien. Het lijkt erop dat de incorporatie-techniek alleen de synthese meet van grote, niet in zuur oplosbare eiwitten, terwijl de arteriele-veneuze verdunningsmethode de synthese meet van grote en kleine eiwitten die zowel zuur-oplosbaar als niet-zuur-oplosbaar zijn. De arteriele-veneuze verdunningsmethode laat dus zien dat na langdurig hongeren de eiwitafbraak en eiwitsynthese omhoog gaat hetgeen deels leidt tot een netto eiwit afbraak (afbraak gaat meer omhoog dan de synthese) en deels tot een verhoogde omzetting van eiwitten (zogenaamde verhoogde eiwit turnover). Of een verhoogde turnover van eiwitten van nut is of dat het een nutteloos en energie-kostend proces is, verdient nader onderzoek.

Deel II

In hoofdstuk 5,6,7 en 8 worden de effecten van een methylcholanthrene (MCA) geïnduceerde tumor op de turnover van eiwitten en aminozuren in spier, darm en lever gemeten. MCA tumoren zijn in veel onderzoeken gebruikt om stofwisselingsstoornissen bij kanker te bestuderen. In deze studies worden echter ratten van de Fisher stam gebruikt. Bij dit type rat leidt de aanwezigheid van een dergelijke tumor tot een drastische afname van de voedselinname dat gepaard gaat met een drastisch gewichtsverlies. In ons laboratorium hebben wij Lewis ratten gebruikt en, gedurende de 3½ jaar onderzoek, hebben wij nooit een afname in de voedselinname gezien en werd slechts een zeer mild verlies aan lichaamsgewicht waargenomen. Uiteindelijk hebben wij een MCA tumor uit Cincinatti (gekregen van WT Chance, Universiteit van Cincinnati) bij Fisher ratten geïmplantéerd op ons laboratorium. Hoewel deze tumor op het laboratorium te Cincinnati duidelijk veranderingen in de voedselinname induceerde, bleek dit niet het geval op ons laboratorium. Dit kan samenhangen met het verschil in het type voedsel dat in beide laboratoria gebruikt wordt, de verschillende bacteriën die in de darm aanwezig zijn bij ratten uit verschillende laboratoria, en mogelijk ook met het verschil in gevoeligheid van verschillende ratten stammen voor zogenaamde ontstekingsmediatoren (zoals ook beschreven is bij onderzoek naar de oorzaak van darmontstekingen). Het valt echter buiten de "scoop" van dit proefschrift om het gedragsverschil in voedselinname te verklaren.

Bij een tumor gewicht van 5-15% en 15-30% van het lichaamsgewicht vindt geen verandering in voedselinname plaats. Dit impliceert dat de stofwisseling wordt aangepast om met dezelfde hoeveelheid voedsel uit te komen. Indien deze

aanpassingen en veranderingen in de stofwisseling vergeleken zouden moeten worden met de kliniek zou deze het best vergelijkbaar zijn met de vroeg ontdekte, nog niet anorectische kanker patiënt met matig gewichtsverlies (b.v. patiënt met kanker van de dikke darm).

In hoofdstuk 5 wordt beschreven hoe met toenemende tumor-grootte de omzetting van eiwitten en aminozuren omhoog gaat indien deze gemeten wordt over het gehele lichaam. Normaal bepaalt de eiwitstofwisseling van spierweefsel het merendeel van de eiwit turnover van het gehele lichaam. Bij eiwitafbraak komen aminozuren vrij en bij afbraak van spiereiwit worden deze voor een groot deel omgezet tot het aminozuur glutamine. Glutamine wordt vervolgens afgegeven aan de bloedbaan en getransporteerd naar andere organen (nier, lever en darm). De eiwit turnover en eiwitafbraak van spierweefsel neemt toe bij kleine tumor-dragende ratten (5-10% van het lichaamsgewicht). Deze eiwitafbraak leidt tot een vergrootte uitscheiding van het aminozuur glutamine. Bij grote tumoren (15-30% van het lichaamsgewicht) neemt de eiwit turnover en eiwitafbraak weer af alsof de spier (metabool) uitgeput raakt. Ook de glutamine turnover daalt naar het niveau van controle ratten. Dit contrasteert met de turnover van glutamine wanneer deze over het gehele lichaam gemeten wordt. De turnover van het gehele lichaam blijft juist onveranderd bij kleine tumoren en verdubbelt bij grote tumoren. De verdubbeling bij grote tumoren kan samenhangen met een vergrootte opname van glutamine als energie substraat en als substraat om nucleotiden te maken door het immuunsysteem. De verhoogde glutamine turnover kan echter ook samen hangen met veranderingen in de glucose stofwisseling aangezien glutamine tevens omgezet kan worden tot een intermediair van de citroenzuur cyclus.

In hoofdstuk 6 wordt beschreven hoe met het groter worden van de tumor de consumptie glutamine door de darm toeneemt. Dit gebeurt in de aanwezigheid van verlaagde glutamine concentraties in de darm zelf. Tevens wordt een toegenomen doorlaatbaarheid van de darm gezien zonder tekenen van atrofie (celverlies). De toegenomen doorlaatbaarheid was wel geassocieerd met een afgenomen differentiatie (ontwikkelingsgraad) van cellen van de darm.

De resultaten van hoofdstuk 7 laten zien hoe de lever aanpast aan de toegenomen behoefte aan eiwitten en aminozuren dat ontstaat door de ontwikkeling van een tumor en de hiermee gepaard gaande activatie van afweercellen. De lever zorgt in het algemeen voor een evenwichtige verdeling van aminozuren, maakt er suiker van en gebruikt een deel voor eigen eiwitsynthese. We laten zien dat, in de aanwezigheid van kanker, aminozuren worden opgenomen door de lever voor met name de aanmaak van structurele eiwitten van de lever zelf. Daarnaast worden aminozuren opgenomen voor zogenaamde export-eiwitten. Deze export-eiwitten zijn voor een groot deel de acute fase eiwitten. We laten tevens zien dat het

zogenaamde α_2 -macroglobuline, een van de meest reactieve acute fase eiwitten in de rat, stijgt bij kanker-dragende ratten naar een niveau dat wij ook zien na bijvoorbeeld een grote operatie in de buik.

In hoofdstuk 8 wordt de stofwisseling van het aminozuur glutamine in de lever omschreven. De lever speelt een belangrijke rol in de stofwisseling van glutamine omdat het zowel glutamine kan aanmaken als afbreken. Dit resulteert normaliter in een zogenaamde "intercellulaire" glutamine cyclus tussen verschillende cel populaties in de lever. Het drie compartimenten model maakt het mogelijk om de snelheid van aanmaak en afbraak in de verschillende cel populaties *in vivo* te meten. De studie laat zien dat de afbraak van glutamine, die plaatsvindt in de zogenaamde periportale cellen, de belangrijkste determinant is die regelt of de lever glutamine netto uitstoot of opneemt. De studie laat verder zien dat de lever bij kleine tumoren de uitstoot van glutamine verandert in een opname van glutamine. Als de tumor groter wordt geeft de lever wederom netto glutamine af. Dit gebeurt in samenhang met verlaagde arteriële glutamine concentraties. Het lijkt erop dat de lever glutamine afgeeft aan de bloedbaan bij groter wordende tumoren om de concentraties in het bloed op peil te houden.

Deel III

Hoofdstuk 9 en 10 werden de effecten van een standaard operatie op de eiwit- en aminozuur-stofwisseling bij kanker bestudeerd. In beide hoofdstukken wordt aangetoond dat na een operatie (chirurgisch trauma) aminozuren gemobiliseerd worden door eiwitafbraak in de darm en in spierweefsel. In de vroege, zogenaamde "ebb fase", na een chirurgisch trauma worden de aminozuren gemobiliseerd uit de eiwitten met een hoge omzettingssnelheid. Dit zijn voornamelijk de eiwitten van de darm. In de latere fase, de zogenaamde "flow fase", komen de aminozuren van de eiwitten met een langzamere omzettingssnelheid vrij. Dit zijn voornamelijk de spiereiwitten. Kanker-dragende ratten kunnen niet normaal responderen op een chirurgisch trauma. De eiwitafbraak in spier weefsel blijft achter en er vindt met name onvoldoende mobilisatie van glutamine plaats vanuit de spier. Aangezien glutamine na een operatie nodig is voor de afweercellen, zal een verminderde beschikbaarheid van glutamine de afweer compromitteren.

De eiwitafbraak van de darm blijft ook achter bij de kanker-dragende rat. Dit gaat gepaard met een toegenomen doorlaatbaarheid van de darm voor lichaamsvreemde stoffen. Beide studies suggereren dat bij kanker de voorziening van belangrijke aminozuren achterblijft vergeleken bij de voorziening van nutrienten indien er sprake is van een gezonde conditie. Het niet kunnen aanpassen van de stofwisseling tijdens

kanker compromitteert met name de acute fase respons en de immuunrespons, terwijl op hetzelfde moment het aanbod van vreemde stoffen waartegen het immuunsysteem moet strijden toegenomen is. Dit kan verklaren waarom kanker patiënten een verhoogd risico hebben op bijkomende ziekte na operaties en is richtinggevend voor keuzes van toekomstige interventies.